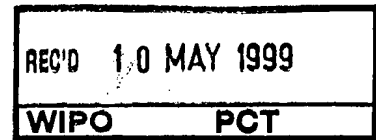


**PRIORITY DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)



EP 99/1729 **Bescheinigung**

Die Hoechst Marion Roussel Deutschland GmbH in Frankfurt am Main/  
Deutschland hat eine Gebrauchsmusteranmeldung unter der Bezeichnung

"Miniaturisierte Mikrotiterplatte für das HTS-Screening"

am 1. Oktober 1998 beim Deutschen Patent- und Markenamt eingereicht.

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Gebrauchsmusteranmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patent- und Markenamt vorläufig die Symbole B 01 L und G 01 N der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 14. Januar 1999

**Deutsches Patent- und Markenamt**

Der Präsident  
Im Auftrag

Aktenzeichen: 298 17 526.6

Nietiedt

## Beschreibung

### 5 Miniaturisierte Mikrotiterplatte für das HTS-Screening

Die Erfindung betrifft eine miniaturisierte Mikrotiterplatte für das HTS-Screening (High Throughput Screening).

- 10 Bei diesem Screening ist es wünschenswert, den Verbrauch von Assaykomponenten sowie von den Substanzen aus den Screening-Libraries möglichst niedrig zu halten und den Durchsatz von Screeningassays möglichst hoch. Dies kann durch eine Miniaturisierung von Screeningassays erreicht werden. Hierbei ist es jedoch notwendig, entsprechende Mikrotiterplatten zu befüllen, die ein
- 15 Assayvolumen von etwa 0,5 bis 10 µl, bevorzugt 1 bis 6 µl, besonders bevorzugt 1 bis 2 µl, aufweisen. Verfügbar sind bisher erst wenige Prototypen, die nur von bestimmten Analysengeräten verarbeitet werden können. Benötigt werden jedoch Mikrotiterplatten, die eine Analyse mit sehr empfindlichen Detektoren (mit konvokaler Optik) ermöglichen und die die Befüllung mit „Nanodispensern“ erlauben.
- 20 Ferner wünschenswert ist zudem ein Verdunstungsschutz.

- Bekannt sind Mikrotiterplatten der Fa. Greiner, 64943 Hirschberg, (Micro-Assay-Plate, 1536 wells) . Hier ist das Arbeitsvolumen der Probenträger relativ hoch (4-8 µl) und sie erlauben keine „Single Molecule Detection“. Das Arbeitsvolumen der
- 25 Mikrotiterplatten von Corning Costar (Corning Costar Deutschland, 55924 Bodenheim) liegt zwar zwischen 1 bis 2 µl, allerdings ist der Rahmen der Mikrotiterplatten zu dünn, so daß übliche Robotersysteme die Mikrotiterplatten nicht transportieren können. Auch hier ist eine „Single Molecular Detection“ nicht möglich.
- 30 Hier will die Erfindung Abhilfe schaffen.

Erfindungsgemäß geschieht dies durch eine miniaturisierte Mikrotiterplatte, die dadurch gekennzeichnet ist, daß die Mikrotiterplatte (Körper aus Kunststoff, Boden aus Glas), 1000 bis 4000 Gefäße (Wells), bevorzugt 1400 bis 2500 Gefäße (Wells), besonders bevorzugt 1536 Gefäße (Wells), hat, der Durchmesser der Gefäße

5 (Wells) ungefähr 1,0 bis 1,8 mm, bevorzugt 1,2 bis 1,5 mm, ist, der Boden der Mikrotiterplatte aus Glas besteht und eine Schichtdicke von 0,07 bis 0,2 mm, bevorzugt 0,1 bis 0,14 mm, besonders bevorzugt 0,12 mm, aufweist und die Mikrotiterplatte einen Deckel als Verdunstungsschutz hat.

10 Die miniaturisierte Mikrotiterplatte hat in der Regel eine Größe von 10,0-15,0 x 7,0-10,0 cm, bevorzugt 12,7 x 8,5 cm. Jedoch sind auch davon abweichende Größen möglich.

Die Form der Gefäße (Wells) ist variabel. So können beispielsweise runde, eckige oder abgerundet eckige Gefäße verwendet werden. Bevorzugt sind runde Gefäße.

15 Ebenso kann die Anzahl der Gefäße (Wells) von den obengenannten Werten abweichen. Der Winkel zwischen Boden und Wand der Wells kann zwischen 20° und 90° variieren.

Bei der Herstellung von Mikrotiterplatten ist es wichtig, das richtige Material zu

20 verwenden. Der Körper der Mikrotiterplatte besteht aus Kunststoff, wie z.B.

Polystyrol, Polypropylen, Polycarbonat, Vectra, Hostalen, Topas. Die

Mikrotiterplatten werden in der Regel im Spritzgußverfahren (oder Prägeverfahren)

hergestellt. Nach dem Spritzen kühlt der Kunststoff ab. Dabei kann sich die

Mikrotiterplatte verbiegen (da die Abkühlung lokal unterschiedlich schnell erfolgt).

25 Somit ist es günstig ein Material zu verwenden, das nur eine sehr geringe „Verkrümmung“ erzeugt.

Der Deckel der Mikrotiterplatte ist ebenfalls aus Kunststoff und sitzt auf der

Mikrotiterplatte formschlüssig auf. Die Schichtdicke des Bodens (Material: Glas) der

30 Mikrotiterplatte (0,07 - 0,20 mm) als auch der Durchmesser der Gefäße (ca. 1,0 - 1,8

mm) erlauben die Analyse der Mikrotiterplatte mit Hilfe einer konvokalen Optik. Die

Verwendung einer konvokalen Optik hat folgende Vorteile:



1. Die Sensitivität ist sehr hoch (im Vergleich zu nicht konvokalen Optiken), da u. U. sogar einzelne Moleküle detektiert werden können (Single Molecule Detection)

2. Aufgrund der hohen Sensitivität kann die Meßzeit niedriger sein und somit die gesamte Analysegeschwindigkeit einer Mikrotiterplatte erhöht werden (im Vergleich

5 zu vielen nicht konvokalen Optiken) .

3. Da der Focus einer konvokalen Optik sehr klein ist (meist deutlich unter 10  $\mu\text{m}$ ), ist die Detektion von Hintergrundsignalen stark reduziert und somit das Signal/Rauschverhältnis besser (im Vergleich zu nicht konvokalen Optiken).

10 Der Boden der Mikrotiterplatte, der aus Glas besteht, kann mit unterschiedlichen chemischen und biologischen Substanzen, wie z.B. Cellulose, Cellulosederivate, Dextrane, Polyethylenglykole beschichtet werden, um unspezifische Bindungen zu unterdrücken. Ebenfalls sollte der Boden biologische Moleküle tragen können, die spezifisch andere Substanzen binden. Letzteres ist bedeutsam für den Einsatz im

15 Pharmascreeing, z.B. für Sandwich-Assays.

Im folgenden werden mögliche Ausgestaltungen der erfindungsgemäßen Mikrotiterplatte anhand der Figuren 1 bis 3 näher beschrieben. Die Erfindung ist jedoch nicht auf diese Ausgestaltungen beschränkt.

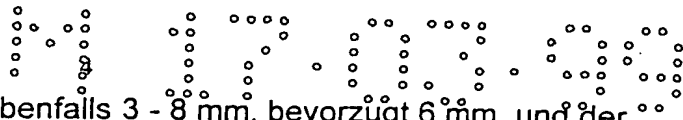
20 Fig. 1: Perspektivische Darstellung der Mikrotiterplatte mit abgehobenem Deckel

Fig. 2: Schnitt gemäß Ebene II-II aus Fig. 1

25 Fig. 3: Schnitt gemäß Ebene III-III aus Fig. 1

In Fig. 1 ist die Mikrotiterplatte mit den Gefäßen (3) perspektivisch dargestellt. Der Rahmen (1) hat eine Länge von  $a = 127 \text{ mm}$  und eine Breite von  $b = 85 \text{ mm}$ . Der Deckel (4) mit den Vorsprüngen (5) ist in abgehobenem Zustand gezeigt.

30 In Fig. 2 ist ein Schnitt gemäß Ebene II-II dargestellt. Der Glasboden (2) ist unter der Mikrotiterplatte befestigt. Der Randabstand ( $a_1$ ) beträgt 3 - 8 mm, bevorzugt 6 mm, und der Abstand ( $a_2$ ) 6 - 11 mm, bevorzugt 9,5 mm. Der entsprechende

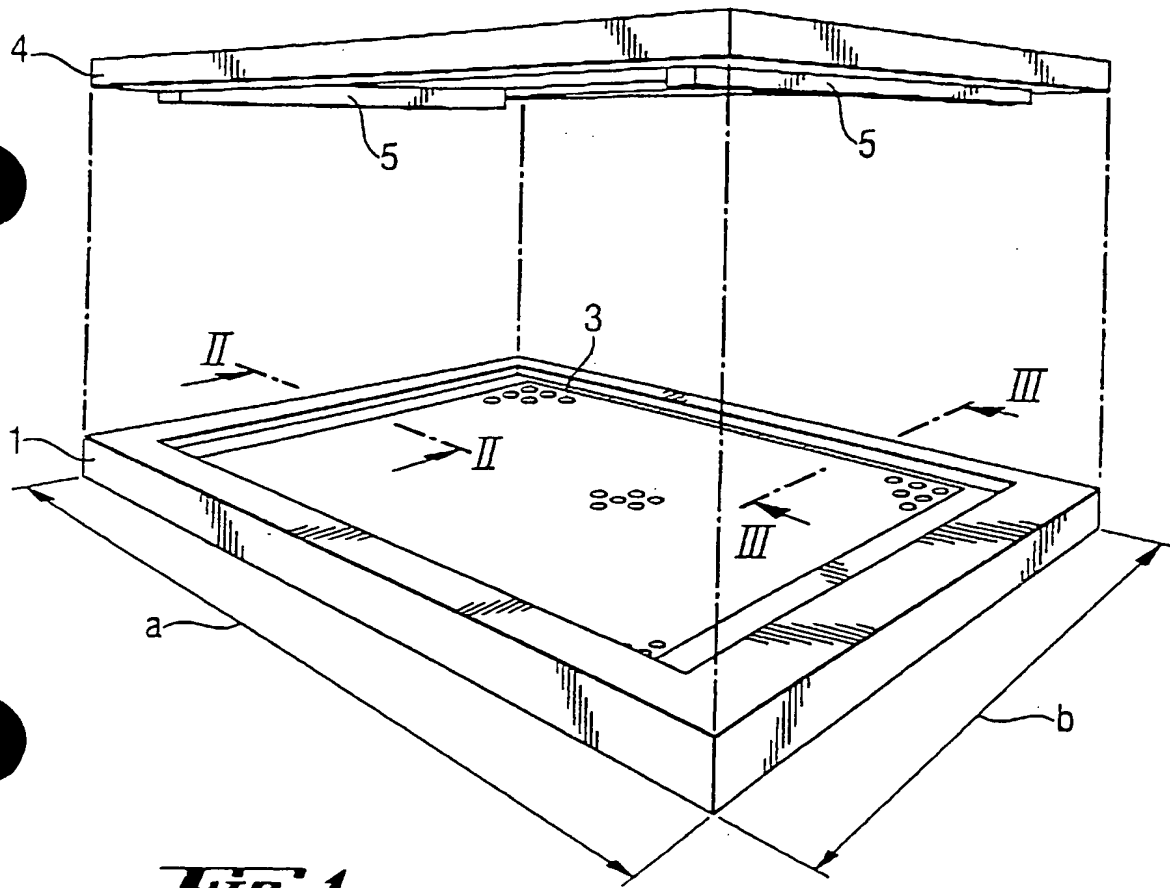


Randabstand (b1) in Fig. 3 beträgt ebenfalls 3 - 8 mm, bevorzugt 6 mm, und der Abstand (b2) 4 - 9 mm, bevorzugt 6,5 mm. Die Rahmenhöhe der Mikrotiterplatte beträgt  $c = 6 - 20$  mm bevorzugt 6 - 15 mm, besonders bevorzugt 6 mm, und die Innenhöhe c1 3 - 12 mm, bevorzugt 3 mm. Der Gefäßdurchmesser (d) liegt  
5 zwischen 1,0 und 1,5 mm, bevorzugt bei 1,3 mm, der Gefäßabstand (a3) bei 2,25 mm und die Gefäßhöhe (h) zwischen 2,0 und 7,0 mm.

Patentanspruch:

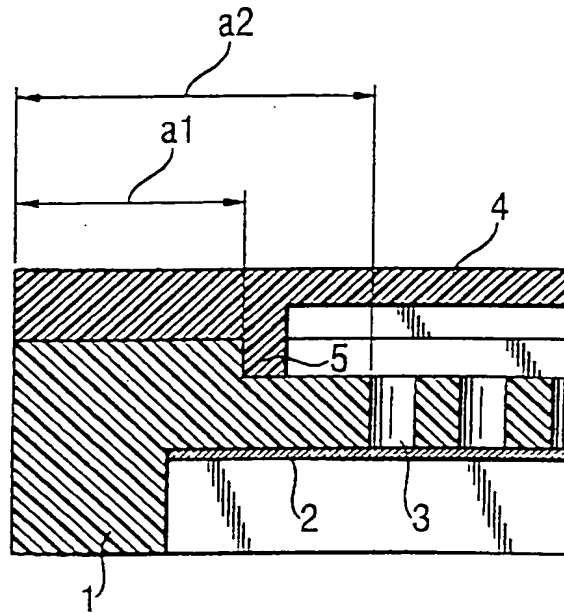
1. Miniaturisierte Mikrotiterplatte , dadurch gekennzeichnet, daß die  
5 Mikrotiterplatte (Körper aus Kunststoff, Boden aus Glas), 1000 bis 4000 Gefäße (Wells) (3) hat, der Durchmesser der Gefäße (Wells) (d) 1,0 bis 1,8 mm ist, der Boden der Mikrotiterplatte (2) aus Glas besteht und eine Schichtdicke von 0,07 - 0,2 mm aufweist und die Mikrotiterplatte einen Deckel (4) als Verdunstungsschutz hat.
- 10 2. Miniaturisierte Mikrotiterplatte gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Mikrotiterplatte 1400 bis 2500 Gefäße (Wells) hat, der Durchmesser der Gefäße 1,2 bis 1,5 mm ist und der Boden der Mikrotiterplatte eine Schichtdicke von 0,1 bis 0,14 mm aufweist.
- 15 3. Miniaturisierte Mikrotiterplatte gemäß Anspruch 1 und/oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Mikrotiterplatte 1536 Gefäße (Wells) hat.
4. Miniaturisierte Mikrotiterplatte gemäß den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Boden der Mikrotiterplatte eine Schichtdicke von 0,12 mm  
20 aufweist.

17.03.99  
1/2



**Fig. 1**

**Fig. 2**



**Fig. 3**

